Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München.
Vorstand: Prof. Dr. Oskar Seifried.

Postmortale Schnelldiagnose der infektiösen Anämie der Pferde.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Friedrich Wilhelm Schmidt,
praktischer Tierarzt,
Sarstedt.

München 1935.

Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München.
Vorstand: Prof. Dr. Oskar Seifried.

Postmortale Schnelldiagnose der infektiösen Anämie der Pferde.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Friedrich Wilhelm Schmidt,
praktischer Tierarzt,
Sarstedt.

München 1935.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München.
Referent: Prof. Dr. O. Seifried.

Meinen lieben Eltern.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153307_0135

Da wir oft gezwungen sind, am Sektionstisch in fraglichen Fällen schnell eine Diagnose zu stellen, erscheint es angebracht, die Tupfmethode von Zanaty einer Nachprüfung in Bezug auf ihre Brauchbarkeit zur postmortalen Diagnose der infektiösen Anämie der Pferde zu unterziehen.

Schrifttum.

Zanaty beschreibt in seiner Arbeit „Tupfpräparate und ihre Anwendung zur Diagnosestellung der Blutkrankheiten im Sektionssaal" ein Verfahren, mit dem er Krankheiten der blutbildenden Organe schnellstens festzustellen imstande ist.

Da die bisherigen Methoden, wie Ausstrich- und Gefrierschnittspräparate und noch langwierigere diagnostische Hilfsmittel nicht genügend sicher oder schnell sind, benützt Zanaty das sog. Tupfpräparat, das dem Schnitt ähnliche Ergebnisse zeitigt. Er weist besonders darauf hin, daß im Blutausstrichpräparat die Blutzellen starken Veränderungen unterworfen sind, sodaß die Beurteilung der Zellformen Schwierigkeiten bereitet, ferner, daß im Dickentropfenpräparat die Schichtdicke des Präparates eine genaue Differenzierung der einzelnen Blutbestandteile nicht zuläßt.

An zahlreichen Untersuchungen bei Blutkrankheiten, wie Leukosen, Retikuloendotheliosen, Myelomen, Lymphosarkomen, Lymphogranulomen, Anämien zeigt Zanaty, daß seine Methode „durchaus zuverlässige und klare Bilder" ergibt, und dem Schnittpräparat, das zwar niemals ersetzt werden kann, in Bezug auf Schnelligkeit der Diagnose vorzuziehen ist.

Ein weiterer Vorteil dieser Methode ist die einfache Technik, die ohne viele Hilfsmittel zu bewerkstelligen ist.

Verlauf der Methode:

Man schneidet aus den zu untersuchenden Organen Würfel mit einer Kantenlänge von ½—1 cm mit einem sauberen, sehr scharfen Messer heraus, um auf diese Weise glatte Schnittflächen zu erhalten. Sodann ergreift man dieselben mit einer chirurgischen Pinzette und tupft, ohne dabei einen besonderen Druck auszuüben, mehrmals auf

einer trockenen sauberen Porzellan- oder Glasplatte ab, bis die einzelnen Tupfer nicht mehr feuchtglänzend erscheinen. Dann tupft man auf einen sauberen, entfetteten, trockenen Objektträger ab, läßt das Präparat „lufttrocken" werden und kann sogleich mit dem Färben beginnen.

Die geeignetsten Färbungsmethoden sind diejenigen nach Giemsa, May-Grünwald, die Hämalaunfärbung und der Eisennachweis mit der Berlinerblau- bzw. Turnbullblau-Reaktion.

Die Betrachtung der gefärbten Präparate erfolgt im Mikroskop mit starker Vergrößerung, bzw. mit Ölimmersion.

Die Art der einzelnen Zellen ist bei Anwendung der vorstehenden Färbemethoden genauestens zu unterscheiden. Erst wenn alle Organe untersucht sind, soll eine endgültige Diagnose gestellt werden. Diese muß jedoch stets durch die nachfolgende Untersuchung der Schnittpräparate unterstützt werden, denn das Tupfpräparat kann und soll den Schnitt nicht ersetzen, sondern nur eine wertvolle Bereicherung in diagnostischer Hinsicht sein.

Da in der Veterinärmedizin die Diagnose der infektiösen Anämie der Pferde sowohl in klinischer als auch in pathologisch-anatomischer Hinsicht auf besondere Schwierigkeiten stößt, ist mir die Aufgabe zuteil geworden, mit der Zanatyschen Methode bei der infektiösen Anämie verdächtigen Fällen Untersuchungen über die Möglichkeit einer postmortalen Schnelldiagnose anzustellen.

Diese Krankheit, die der deutschen Pferdezucht alljährlich großen Schaden zufügt und der aufstrebenden Wehrmacht gefährlich werden kann, weil ihre Bekämpfung auf Schwierigkeiten stößt, muß schnellstens auf dem Sektionstisch erkannt werden, um alsbald Gegenmaßnahmen ergreifen zu können.

Eigene Untersuchungen.

Material und Methodik.

Das zu den vorliegenden Untersuchungen verwendete Material stammt von 22 Pferden, die der infektiösen Anämie verdächtig waren. Von jedem Fall gelangten zur Untersuchung Leber, Milz, Niere. Von jedem Organ wurden mehrere Präparate angefertigt. [1]) Die

[1]) Für das durch die freundliche Vermittlung der Herren Prof. Dr. Zwick-Giessen, Oberreg.-Rat Dr. Gminder-Stuttgart und Veterinärmed. Rat Dr. Lang-Schleißheim zur Verfügung gestellte Material sei auch an dieser Stelle verbindlichster Dank ausgesprochen.

Brauchbarkeit der Zanaty'schen Methode wurde durch Vergleich mit den Gefrierschnitten der entsprechenden Organe geprüft.

Färbungen: nach Giemsa und Berlinerblau-Reaktion und zwar wie folgt:

Giemsafärbung:

1. Fixation des lufttrockenen Präparates in Äther-Alkohol $\overline{aa}$ 20'
2. Färben in frisch hergestellter verdünnter Giemsalösung (2 ccm Lösung auf 100 ccm dest. Wasser) 6—12 Stunden
3. Gründliches Wässern in fließ. Wasser 10—15'
4. Abtrocknen mit Fließpapier (nicht erhitzen!)
5. Einschluß in Cedernöl.

Berliner-Blau-Reaktion:

Safranin 3'
Abwaschen mit dest. Wasser.
Ferrocyankalium 60—70'
Abtrocknen in Fließpapier.
Eindecken in Cedernöl.

oder:

Lithionkarmin 15—20'
Salzsäurealkohol 15'
Abwaschen in dest. Wasser.
Ferrocyankalium 60—70'
Abwaschen, Entwässern, Eindecken.

Der Erfolg der Färbung ist bei Einhaltung der oben angegebenen Zeiten sehr befriedigend. Voraussetzung ist jedoch, daß stets frisches, nicht konserviertes Material zur Verarbeitung gelangt. Ferner ist darauf zu achten, daß keine zu dünnen Tupfpräparate hergestellt werden, da diese ungenaue Ergebnisse zeitigen.

Von den untersuchten 22 Fällen von infektiöser Anämie bei Pferden, die verdächtig waren, mit ansteckender Blutarmut behaftet zu sein, waren positiv: 13 Fälle, negativ: 7 Fälle, fraglich: 2 Fälle.

Die Untersuchungsbefunde bei den einzelnen Fällen sind in nachstehender Tabelle zusammengefaßt, und zwar auf Grund der vorhandenen Menge von Eisenpigment in Milz und Leber und von Lymphoidzellanhäufungen in letzterem Organ.

Dabei bedeuten:
+++ sehr viel, ++ viel, + mäßige, — Spuren, ○ keine Eisen- und Lymphoidzellanhäufungen.

Tabelle 1.

Pferd	Histologische Untersuchung			Diagnose	Tupfpräparat			Diagnose
	Leber	Milz	Niere		Leber	Milz	Niere	
38/35	keine Schnitte				+	+	—	Fragl.
Gießen I	+	+++	—	Fragl.	+	+++	—	Fragl.
61/35	+++	++	+++	Posit.	+++	+	+++	Posit.
69/35	+	+++	—	Negat.	+	+++	—	Negat.
71/35	keine Schnitte				++	++	—	Posit.
Spaiching.	„	„			—	+	—	Negat.
Süssen	„	„			++	++	—	Posit.
74/35	○	+++	○	Negat.	○	+++	○	Negat.
Gießen 2	○	+++	○	Negat.	○	+++	○	Negat.
Spaiching.	—	+	○	Negat.	○	+	○	Negat.
92/35	+++	+++	+++	Posit.	+++	+++	+++	Posit.
94/35	+++	++	++	Posit.	++	+	++	Posit.
—	+++	+++	—	Posit.	+++	+++	—	Posit.
104/35	++	+	—	Posit.	++	+	+	Posit.
105/35	+++	++	+	Posit.	++	++	+	Posit.
116/35	+++	+++	+	Posit.	+++	++	—	Posit.
115/35	—	+	○	Negat.	○	—	○	Negat.
123/35	++	+	—	Posit.	++	+	—	Posit.
124/35	++	+	+++	Posit.	++	+	+++	Posit.
128/35	+++	++	+	Posit.	+++	+	—	Posit.
Gießen 3	++	+	○	Posit.	++	+	○	Posit.
München	○	++	+	Negat.	○	++	—	Negat.

An einigen Einzelbeispielen soll gezeigt werden, was die Methode zu leisten vermag:

Pferd 61/35. Eingesandt: Leber, Milz, Niere.

Vorbericht: Verdacht der infektiösen Anämie.

Befund: Alle Organe sind vergrößert und geschwollen Die Leber läßt deutliche Muskatnußzeichnung erkennen. Die Milz ist dunkelrot und sehr weich.

Tupfpräparate: Eisennachweis: Leber und Niere sehr starke Eisenpigmentablagerungen. Milz verminderter Eisengehalt.

Giemsafärbung: Leber zeigt viele Leberzellen, sehr viel Lymphoidzellen, vereinzelte Granulozyten. Rote Blutkörperchen verhältnismäßig wenig.

Milz: Pulpazellen und lymphoide Zellen in großer Menge.
Niere: Einige Nierenepithelien. Vereinzelte Leukozyten. Viel Lymphoidzellen.

Diagnose: Infektiöse Anämie.
Gefrierschnitte von Leber, Milz, Niere bestätigen den Befund.

Pferd Gießen 2. Eingesandt: Leber, Milz, Niere mit dem Vorbericht, daß Verdacht auf infektiöse Anämie besteht.

Befund: Leber nicht verändert. Milz sehr weich, himbeerfarben. Niere sehr weich. Fäulnis in allen Organen in den äußeren Schichten.

Tupfpräparate: Eisennachweis: Leber und Niere enthalten in einer großen Reihe von Tupfpräparaten nicht die geringste Spur von Eisenpigment. Dagegen sind in der Milz ausgedehnte Eisenablagerungen festzustellen.

Giemsafärbung: Sehr viele Leberzellen. Nur vereinzelte Lymphoidzellen und polymorphkernige Leukozyten unregelmäßig zwischen den Leberzellen liegend und mit vielen roten Blutkörperchen und Lymphozyten vermischt.

Milz: Viele Pulpazellen und rote Blutkörperchen desgl. weiße Pulpa.

Niere: Nierenepithelien und Lymphozyten.

Diagnose: Infektiöse Anämie negativ.
Schnitte aller Organe ergeben denselben Befund.

Pferd 105/35. Eingesandt: Leber, Milz, Niere. Verdacht der infektiösen Anämie. Leber zeigt deutliche Muskatnußzeichnung. Niere stark geschwollen. Milzpulpa sehr weich, schwarzrot.

Tupfpräparate: Eisennachweis: Leber starke Pigmentablagerungen. Eisengehalt der Milz stark vermindert. Niere zeigt mäßige Eisenmengen. Das Pigment ist in Zellen eingeschlossen und auch frei im Präparat liegend sichtbar.

Giemsafärbung: Vereinzelte Leberzellen mit Lipo-Fuscineinlagerung im Protoplasma. Sehr viele Lymphoidzellen. Wenige rote Blutkörperchen.

Milz: Pulpazellen. Sehr viele Lymphoidzellen.
Niere: Epithelien. Sehr viele Lymphoidzellen.

Schnitte: Milz mehr Eisen als im Tupfpräparat. Im Vergleich zum normalen Eisenpigmentgehalt jedoch stark verringert. Im übrigen bestätigen die Schnittpräparate den Befund der Tupfpräparate.

Diagnose: Infektiöse Anämie in hohem Grade.

Pferd 116/35. Eingesandt: Leber, Milz, Niere. Verdacht der ansteckenden Blutarmut.

Leber zeigt Muskatnußzeichnung. Ferner schwarzgrünliche Stellen, die auch in der Niere zu beobachten sind: wahrscheinlich Fäulniserscheinungen.

Tupfpräparate: Eisennachweis: Leber sehr viel. Milz vermindert. Niere mäßig.

Giemsafärbung: Lymphoidzellen in der Leber sehr zahlreich. Vereinzelte Lymphozyten und Leukozyten.

Milz: rote Blutkörperchen, Pulpazellen, Lymphoidzellen.

Niere: Epithelien, Lymphoidzellen in mäßiger Anzahl. Verhältnismäßig viel neutrophile und eosinophile Leukozyten. Schnitte bestätigen den Befund der Tupfpräparate. In Milz und Niere stärkere Eisenablagerung zu sehen.

Diagnose: Infektiöse Anämie in hohem Grade.

Besprechung der Untersuchungsergebnisse.

Auf Grund der angestellten Untersuchungen kann folgendes festgestellt werden:

Die besten Tupfpräparate ergibt zweifelsfrei die Leber, deren Gewebsaufbau in guter Differenzierung einwandfrei zu erkennen ist. Allerdings werden die Zusammenhänge zwischen den einzelnen Zellen vermißt. Größere Zellverbände treten selten hervor. Hieraus ergibt sich in der Regel ein Fehlen von Lymphoidzellenhäufungen im Bereiche der Glissonschen Dreiecke, wie sie im Schnittpräparat zu sehen sind. Die Lymphoidzellen und auch das Eisenpigment liegen hauptsächlich zwischen den Zell-

balken und im Bereiche der Kapillaren. Die Pigmentablagerungen finden sich zum Teil in den Retikulo-Endothelien, die dadurch bedeutend vergrößert sind, aber dennoch deutliche Konturen erkennen lassen; zum Teil werden sie auch außerhalb von Zellen angetroffen.

In vielen Fällen, bei denen es sich um alte Pferde handelt, zeigt das Tupfpräparat im Protoplasma der Leberzellen starke Lipofuscinanhäufungen (Alterspigment).

Gute Ergebnisse zeitigt auch das Tupfpräparat der Milz. Die Deutlichkeit des mikroskopischen Bildes hängt jedoch ganz von der Art der Tupfer ab. An einzelnen Stellen entstehen oft dickere Zellansammlungen, da die weiche Milzpulpa trotz öfteren Abtupfens auf der Glasplatte immer in dickeren Schichten auf dem Objektträger haften bleibt. Auch bei einiger Übung läßt sich dieser Nachteil nicht ganz vermeiden.

Bei der Betrachtung im Mikroskop fallen riesige Mengen von Pulpazellen auf, die durch ihren großen Protoplasmaleib gekennzeichnet sind.

Neben diesen treten oft die Lymphoidzellen und Lymphozyten stark in den Hintergrund. Bisweilen finden sich auch mitabgetupfte Retikulumzellen.

Die Niere ist nach unserer Erfahrung das am wenigsten geeignete Organ für diese Methode, da sie nur sehr undeutliche und bruchstückartige Bilder ergibt. Oft ist nur eine Andeutung von Kanälchen, Tubuli und Glomeruli zu bemerken. Der Grund dafür liegt wohl in der Kompaktheit und Konsistenz dieses Organs. Deshalb werden wohl auch die perivaskulären Infiltrate von Lymphoidzellen in der Regel vermißt. Dagegen ist das Vorkommen von Eisenpigment in den Epithelien häufig festzustellen.

Die oben erwähnten Mängel sind wohl in der Hauptsache den bindegewebigen Bestandteilen der Organe zuzuschreiben. Gefäße und bindegewebige Bestandteile überhaupt lassen sich nicht befriedigend abtupfen und daher ist sowohl in der Leber als auch in der Niere nicht einwandfrei festzustellen, wo die Pigmentmassen und die Lymphoidzellanhäufungen liegen, ob um die Zentralvene herum oder zwischen den Leberzellbalken.

Zur Feststellung dieser Verhältnisse ist das Schnittpräparat zweifellos besser geeignet.

Zur postmortalen Diagnose der infektiösen Anämie ist der Nachweis der Lymphoidzellanhäufungen und der Eisenpigmentablagerung in den verschiedenen Zellen und auch außerhalb von solchen von besonderer Bedeutung. Normalerweise, d. h. in gesundem Zustande, ist sowohl die Leber als auch die Niere frei von Eisenpigment, wogegen in der Milz, dem Hauptort des Eisenstoffwechsels, ausgedehnte Eisenpigmentablagerungen sich vorfinden.

Bei der infektiösen Anämie der Pferde sind nun nach allgemeiner Erfahrung in der Regel starke Eisenablagerungen in der Leber, jedoch bedeutende Verringerung des Pigmentes in der Milz festzustellen.

Die Niere ist in dieser Hinsicht allein nicht ausschlaggebend, da auch andere Krankheiten zu Eisenausscheidungen in der Niere führen können.

Der Grad der Pigmentanhäufung ist je nach dem Verlaufe der Krankheit verschieden. Er hängt auch davon ab, ob ein Tier während eines Fieberanfalles oder im Intervall getötet wurde oder verendet war.

Trotz der angegebenen Mängel ist das Tupfpräparat zur Schnelldiagnose der infektiösen Anämie geeignet und dem Schnitt vorzuziehen. Es ergibt vor allem auch sehr deutliche und klare Bilder, da es die einzelnen Blut- und Organzellen, die ja meistens nur einschichtig auf dem Objektträger hatten, unverändert und scharf umrissen — vielfach klarer als das Gefrierschnittpräparat — darstellt. Durch die schnelle Verarbeitung wird weiterhin eine Schrumpfung der Blutzellen verhindert, durch die Stern-, Biskuit-, Keulen- und andere Formen auftreten, die eine einwandfreie Differenzierung der einzelnen Blutkörperchen stören.

Die Lymphoidzellen treten als fast runde blauviolette Gebilde in Erscheinung. Vereinzelt ist auch ein schwacher hellblauer Rand als Schatten sichtbar, während bei den nur in geringer Menge vertretenen Lymphozyten das hellblaue Protoplasma deutlich zu sehen ist.

Die Körnelung der Granulozyten tritt in sehr deutlicher Weise hervor. Die Leberzellen und Nierenepithelien färben sich violett bzw. rotviolett. Sie sind sowohl an ihrer Größe als auch an ihrer charakteristischen Form zu erkennen. Da-

gegen sind die Pulpazellen der Milz schwerer zu unterscheiden. Der dunkelviolette Protoplasmaleib läßt jedoch auch hier die Gebilde als Pulpazellen erkennen.

Bei der Lithionkarmin-Ferrozyankaliumfärbung treten die mehr oder weniger großen blauen Eisenpigmenthaufen aus dem schön rotgefärbten Untergrund der verschiedenen Zellen deutlich hervor. Bei sehr starken Ausscheidungen ist oft das ganze Blickfeld blau.

Zusammenfassung.

Das Tupfpräparat leistet zur Schnelldiagnose der ansteckenden Blutarmut der Pferde gute Dienste und ist ein wertvolles Hilfsmittel zur postmortalen Diagnose dieser Krankheit.

Schrifttum.

Zanaty, A. F., Virch. Arch. f. pathol. Anat. und Physiologie, **293,** 335 (1935).

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Wilhelm Paul Schmidt, wurde am 23. Juli 1908 zu Sarstedt, Kreis Hildesheim, geboren. Nach Besuch der Volksschulen in Baesweiler, Reg.-Bez. Aachen, und Groß-Gorschütz (jetzt Ost-Oberschlesien) besuchte ich das Gymnasium in Neustadt O. S. und das Realgymnasium in Lüben (Schlesien). Hier erlangte ich im März 1930 die Reifeprüfung. Im Sommer-Semester 1930 bezog ich die Tierärztliche Hochschule in Berlin und siedelte dann zum Sommer-Semester 1931 nach München über. An der Tierärztlichen Fakultät der Universität München widmete ich mich weiterhin dem Studium der Tierheilkunde und erwarb mir im Januar 1935 daselbst meine Approbation. Zur Zeit bin ich als Assistent bei Herrn Distriktstierarzt Dr. Erhard, Weismain (Oberfranken) angestellt.

Druck von
J. Gotteswinter, München
Theatinerstraße 18